

Aus der II. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Neukölln
Berlin 47

Dirigierende Ärztin: Professor Dr. med. I. Boll

DIE PROLIFERATION MENSCHLICHER KNOCHENMARK-
ZELLEN BEI CHRONISCH-MYELOISCHER LEUKÄMIE
UNTER EINWIRKUNG VON PLASMA UND SERUM
NICHT LEUKÄMISCHER PROBANDEN IM VERGLEICH
MIT DER KULTIVIERUNG IM AUTOLOGEN MEDIUM

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an den

Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Peter Emberger

aus Berlin

1977



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der II. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Neukölln

Berlin 47

Dirigierende Ärztin: Prof. Dr. med. I. Boll

Die Proliferation menschlicher Knochenmark-
zellen bei chronisch-myeloischer Leukämie
unter Einwirkung von Plasma und Serum nicht
leukämischer Probanden im Vergleich mit der
Kultivierung im autologen Medium

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Peter Emberger
aus Berlin

Referent: Professor Dr. med. I. Boll

Korreferent: Professor Dr. med. H.-J. Kirstaedter



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 19. April 1977

Gliederung

1. Einleitung	S. 4
2. Methode der Untersuchung	S. 5
3. Ergebnisse der sechs Versuche	S. 9
4. Diskussion	S. 50
5. Zusammenfassung	S. 53
Literaturverzeichnis	S. 54

1. Einleitung

Die ersten Berichte über die chronisch-myeloische Leukämie als selbständiges Krankheitsbild stammen aus dem Jahre 1845, als BENNET, CRAIGIE und VIRCHOW unabhängig voneinander drei Fallbeschreibungen dieser Erkrankung veröffentlichten (METCALF 1973).

Es handelt sich dabei nach heutiger Ansicht um eine maligne Erkrankung des granulopoetischen Systems, die durch eine exzessive Vermehrung der Granulocyten und deren Vorstufen sowohl im Knochenmark als auch im peripheren Blut charakterisiert ist. Hierbei kommt es zur Überwucherung des Knochenmarkes mit Granuloblasten, die Erythropoese und die Thrombopoese werden zunehmend zurückgedrängt. Auch in Milz und Leber, später ebenso in anderen parenchymatösen Organen, finden sich granuloblastische Infiltrate, die zur Vergrößerung und Konsistenzvermehrung dieser Organe führen. Als späte Folgen der Knochenmark- und Organveränderungen treten schwere Anämien und Gerinnungsstörungen auf, die entweder direkt zum Tode der Patienten führen oder das Auftreten anderer tödlicher Komplikationen - wie zum Beispiel Infektionen - begünstigen.

Im Gegensatz zu manchen anderen malignen Erkrankungen beruht die stark erhöhte Zahl an Granulocyten bei der chronisch-myeloischen Leukämie nicht auf einer gesteigerten Mitosehäufigkeit (diese ist sogar erniedrigt), sondern es besteht eine Ausreifungshemmung der Granuloblasten, und die Lebensdauer der granulopoetischen Zellen ist verlängert (CRADDOCK 1960, RAAB 1962, CARTWRIGHT 1964, ATHENS 1965, GALBRAIGHT 1966, BIERMAN 1967, BOLL 1973).

Über die Ursache der chronisch-myeloischen Leukämie beim Menschen kann noch keine eindeutige Aussage gemacht werden.

Eine kausale Therapie existiert nicht, mit Cytostatica wird auf dem Weg über eine Mitoseverminderung eine Verringerung der Granulocyten und damit häufig eine Remission der Erkrankung erreicht.

In der vorliegenden Arbeit soll untersucht werden, in welcher Weise die Proliferation menschlichen Knochenmarks bei chronisch-myeloischer Leukämie in vitro - unter den Bedingungen der Koagulumkultivierung - durch nichtleukämisches menschliches Blutplasma und -serum beeinflusst wird.

2. Methode der Untersuchung

2.1 Knochenmarkkultivierung

Das zur Kultivierung benutzte Knochenmark der leukämischen Patienten erhielten wir durch Sternalpunktion. Im Anschluss an die Anfertigung von Originalausstrichen wurden die Kulturen nach der von BOLL modifizierten CARELL'schen Deckglas-methode (1966) angelegt. Dabei bringt man das gewonnene Material zunächst in eine Heparinlösung der Konzentration von 3 mg%. Auf einen Objektträger wird ein Tropfen eines Mediums aus 5 Tropfen Nativplasma (im Versuch von einem nichtleukämischen Spender, in der Kontrolle vom selben leukämischen Patienten), 1 Tropfen Corhormon[®] dreifach verstärkt und 4 Tropfen Hank's Lösung gebracht. Nach dem Koagulieren dieses Gemisches fügt man den vorbereiteten Knochenmarkbröckel hinzu und bedeckt das Ganze mit einem Tropfen Eigen- beziehungsweise Fremdserum. Anschliessend wird die Kultur mit einem Hohlschliffobjektträger bedeckt und mit durch Erhitzen verflüssigtem Hartparaffin luftdicht verschlossen. Die so entstandenen Kulturen werden nun bei Körpertemperatur bebrütet. Nach 24, 48 und 72 Stunden fertigten wir Ausstriche an, die dann ebenso wie der Originalausstrich nach

PAPPENHEIM gefärbt wurden.

2.2 Auswertung der Präparate

Aus jedem Originalausstrich und jedem Kulturpräparat wurden nach Möglichkeit 2000 Zellen differenziert. Bei einigen Kulturen war jedoch nach 72 Stunden soviel Zelldetritus vorhanden, dass entweder nur 1000 Zellen bestimmt werden konnten, oder sogar auf jede Differenzierung verzichtet werden musste.

Die Gesamtzahl der ausgewerteten Zellen beträgt 89676.

2.2.1 Zelldifferenzierung

Die Differenzierung der Zellen wurde nach den von BOLL (1973) geschilderten Kriterien vorgenommen. Für die graphische Darstellung in Reifungskurven wurden folgende Zelltypen herangezogen:

Erythropoese

Proerythroblast

basophiler Erythroblast

polychromatischer Erythroblast

oxyphiler Erythroblast

reifer Erythroblast

Granulopoese

Myeloblast

Promyelocyt

neutrophiler, eosinophiler und basophiler Myelocyt

Promonocyt

Metamyelocyt

Stabkerniger

neutrophiler, eosinophiler und basophiler Segmentkerniger

Monocyt

2.2.2 G/E-Index

Das zahlenmässige Verhältnis von Zellen der Granulopoese zu denen der Erythropoese wurde als G/E-Index errechnet.

2.2.3 Mitoseindices

Neben der Differenzierung der einzelnen Zellarten wurde auch der jeweilige Mitoseindex (Zahl der Mitosen pro tausend teilungsfähige Zellen), getrennt für Erythro- und Granulopoese, festgestellt. Für die Errechnung des roten Mitoseindex (rMI) wurden folgende Zellen als teilungsfähig angesehen (BOLL 1973):

Proerythroblast
basophiler Erythroblast
polychromatischer Erythroblast
oxyphiler Erythroblast

Der weisse Mitoseindex (wMI) ergibt sich entsprechend aus den Mitosen folgender Zellen (BOLL 1973):

Myeloblast
Promyelocyt
neutrophiler, eosinophiler und basophiler Myelocyt
Promonocyt
Metamyelocyt

2.2.4 Mitosephasenverteilung

Nach BOLL (1966) werden folgende Mitosephasen unterschieden:

Prophase
frühe Metaphase
späte Metaphase
Anaphase
Telophase

Rekonstruktionsphase

Die Mitosephasenverteilung wurde in der Granulopoese als karyologische Kurve - in % aufgetragen - zusammengefasst. In der Erythropoese war die Zahl an Mitosen zu gering, um die Anfertigung einer Kurve sinnvoll erscheinen zu lassen.

2.2.5 Signifikanzberechnung

Um die Aussagekraft der erzielten Ergebnisse zu überprüfen, wurde die Signifikanzberechnung nach dem χ^2 -Test von PEARSON (BELITZ 1960) durchgeführt. Bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0,01$ sprechen wir von einem signifikanten Ergebnis.

3. Ergebnisse der sechs Versuche

3.1 Versuch 1

Knochenmarkspender: J.V., geb. 10.8.02

Die Patientin wurde seit zwei Jahren wegen einer chronisch-myeloischen Leukämie behandelt. Die letzte Medikation bestand in wöchentlich 2 mg Myleran[®] und täglich 1/4 mg Lanicor[®].
Ergebnis der Knochenmarkpunktion vom 20.5.70: chronisch-myeloische Leukämie.

Blutbild vom 19.5.70:

Hämoglobin:	13,5 g/100 ml
Erythrocyten:	4,39 Mio/ μ l
Leukocyten:	11300/ μ l
Basophile:	1 %
Eosinophile:	2 %
Myeloblasten:	3 %
Promyelocyten:	1 %
Myelocyten:	3 %
Metamyelocyten:	1 %
Stabkernige:	2 %
Segmentkernige:	71 %
Lymphocyten:	14 %
Monocyten:	2 %
Thrombocyten:	482000/ μ l

Serum- und Plasmaspender: G.M., geb. 7.10.28

Bei diesem Patienten bestand eine geringgradige Polyglobulie, die anlässlich einer Routineuntersuchung entdeckt wurde. Bis zum Zeitpunkt der Blutentnahme nahm er täglich bis zu fünf Tabletten Eu Med[®] ein. Die Knochenmarkpunktion am 19.5.70 erbrachte einen normalen Befund.

Blutbild vom 19.5.70:

Hb: 18,6 g/100 ml

Ery: 5,71 Mio/ μ l

Leuko: 8300/ μ l

Seg: 65 %

Lym: 30 %

Mo: 5 %

Thrombo: 152000/ μ l

3.1.1 Reifungskurven

Erythropoese (Abb. 1)

Die Zahl der teilungsfähigen Erythroblasten nimmt in beiden Kulturen mit zunehmender Bebrütungsdauer ab. Nach 24 Stunden ist die Kurve der Kultur mit Normalserum und -plasma gegenüber der Kontrolle (mit Eigenserum und -plasma) nach rechts verschoben, das heisst, die Ausreifung schreitet nicht so schnell fort. Später ist kein eindeutiger Unterschied mehr feststellbar.

Granulopoese (Abb. 2)

Nach 24 Stunden Bebrütung weisen Kontroll- und Versuchskurven kaum Unterschiede auf. Bei 48 Stunden besteht eine deutliche Verschiebung der Versuchskurve nach rechts, das heisst, die Segmentkernigen hatten noch etwas mehr ab- statt zugenommen. Einen Tag später, nach insgesamt 72 Stunden, ist die Differentialzellverteilung beider Kulturen fast identisch.

3.1.2 G/E-Index (Tab. 1)⁺

Der schon im Originalausstrich - entsprechend der chronisch-myeloischen Leukämie - hohe G/E-Index steigt bei beiden Präparaten unter der Kultivierung an. In der Kontrollkultur wird nach 48 Stunden, in der Versuchskultur nach 24 Stunden ein Maximum erreicht. Nach 72 Stunden ist der G/E-Index des Versuchspräparates höher als der des Kontrollpräparates.

3.1.3 Mitoseindices

Roter Mitoseindex (Tab. 2)

Im Kontrollpräparat zeigt sich eine Erhöhung nach 24 Stunden, danach finden sich keine Mitosen mehr. Im Versuchspräparat wird lediglich nach 48 Stunden eine einzige Mitose beobachtet, was bei der geringen Zahl an teilungsfähigen roten Zellen zu einer Erhöhung des Mitoseindex führt.

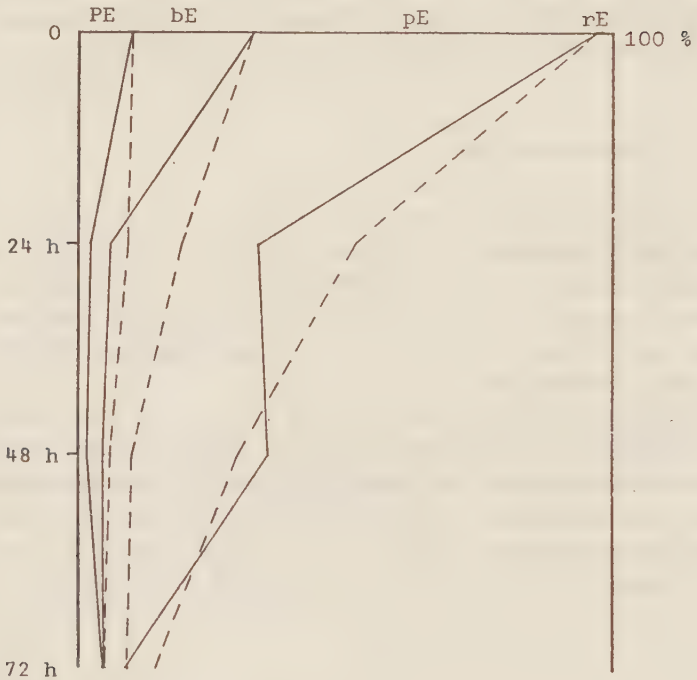
Weisser Mitoseindex (Tab. 3)

Hier zeigt sich in beiden Kulturen eine Erhöhung nach 28 Stunden, später liegen die Werte niedriger als im Originalpräparat. Im Kontrollpräparat sind die weissen Mitoseindices höher als beim Versuch.

⁺ Die Tabellen 1 - 3 befinden sich auf Seite 34 - 36

Abbildung 1

Reifungskurve der Erythropoese, Versuch 1
Die Reifungsstufen sind additiv aufgetragen



Kulturdauer in Stunden

———— = Kontrolle mit Eigenserum und -plasma

- - - - = Versuch mit Fremdserum und -plasma

PE = Proerythroblast

bE = basophiler Erythroblast

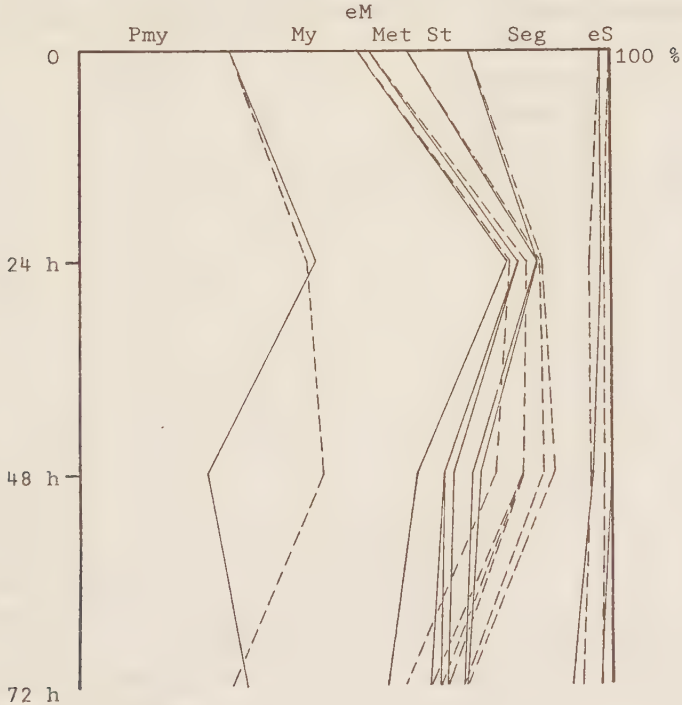
pE = polychromatischer Erythroblast

oE = oxyphiler Erythroblast

rE = reifer Erythroblast

Abbildung 2

Reifungskurve der Granulopoese, Versuch 1
Die Reifungsstufen sind additiv aufgetragen



Kulturdauer in Stunden

———— = Kontrolle mit Eigenserum und -plasma

- - - - = Versuch mit Fremdserum und -plasma

Mb = Myeloblast; Pmy = Promyelocyt; My = neutrophiler Myelocyt;
eM = eosinophiler Myelocyt; bM = basophiler Myelocyt;
Pmo = Promonocyt; Met = Metamyelocyt; St = Stabkerniger;
Seg = neutrophiler Segmentkerniger; eS = eosinophiler Segment-
kerniger; bS = basophiler Segmentkerniger; Mo = Monocyt

3.2 Versuch 2

Knochenmarkspender: B.B., geb. 27.9.50

Hier bestand eine frisch entdeckte chronisch-myeloische Leukämie. Eine medikamentöse Behandlung wurde bis zum Zeitpunkt der Knochenmarkpunktion noch nicht durchgeführt. Ergebnis der Sternalpunktion vom 9.10.72: chronisch-myeloische Leukämie.

Blutbild vom 6.10.72:

Hb: 9,7 g/100 ml

Ery: 3,14 Mio/ μ l

Leuko: 290000/ μ l

Bas: 1,6 %

Eo: 1,4 %

Mb: 5,2 %

Pmy: 17,0 %

My: 13,8 %

Met: 18,6 %

St: 15,8 %

Seg: 26,0 %

Lym: 0,6 %

Thrombo: 460000/ μ l

Serum- und Plasmaspender: L.H., geb. 18.6.93

Die stationäre Behandlung dieser Patientin erfolgte wegen einer biventrikulären Herzinsuffizienz bei Zustand nach Herzinfarkt. Die medikamentöse Therapie vor der Blutentnahme bestand aus: Lanicor[®], Lasix[®], Dilcoran 80[®] und Nitrolingual[®]. Eine Knochenmarkpunktion wurde nicht vorgenommen. Blutbild vom 2.10.72:

Hb:	14,6 g/100 ml
Ery:	4,7 Mio/ μ l
Leuko:	6700/ μ l
Bas:	1 %
Eo:	5 %
Met:	1 %
St:	3 %
Seg:	59 %
Lym:	26 %
Mo:	5 %

3.2.1 Reifungskurven

Erythropoese (Abb. 3)

Mit zunehmender Versuchsdauer treten immer weniger teilungsfähige Erythroblasten auf, nach 72 Stunden sind nur noch reife Erythroblasten vorhanden. Sowohl nach 24 Stunden als auch nach 48 Stunden ist die Kurve der Versuchskultur gegenüber der Kontrolle nach rechts verschoben, das heisst, die teilungsfähigen Erythroblasten haben weniger abgenommen als im Eigenplasma und -serum.

Granulopoese (Abb. 4)

Nach 24 Stunden finden sich auf der linken Seite des Diagramms, also bei den unreifen Zellen der Granulopoese, kaum Unterschiede zwischen den beiden Kurven, während auf der Seite der reiferen Zellen eine Verschiebung der Versuchskurve nach links besteht. Diese resultiert aus einer Zunahme der Segmentker-

nigen auf Kosten der Stabkernigen und Metamyelocyten. Nach 48 Stunden ist die Verteilung der reifen Zellen in beiden Präparaten fast identisch. Bei den unreifen Zellen ist durch Vermehrung der Promyelocyten eine deutliche Verschiebung der Versuchskurve nach rechts zu erkennen, die nach 72 Stunden bei allen Reifestufen besteht.

3.2.2 G/E-Index (Tab. 1)

In beiden Kulturen steigt der G/E-Index an und erreicht seinen höchsten Wert nach 72 Stunden. In den Versuchskulturen liegt der Wert zu allen Zeiten höher als in den Kontrollkulturen.

3.2.3 Mitoseindices

Roter Mitoseindex (Tab. 2)

Nach 24 Stunden findet bei beiden Präparaten ein Anstieg des roten Mitoseindex statt, im Versuchspräparat stärker als in der Kontrolle. Zu späteren Zeitpunkten werden keine Mitosen mehr beobachtet.

Weisser Mitoseindex (Tab. 3)

Bei den Kontrollkulturen nimmt der weisse Mitoseindex kontinuierlich ab, während bei den Versuchskulturen ein Ansteigen der Mitosehäufigkeit nach 24 und besonders nach 48 Stunden beobachtet werden kann. Nach 72 Stunden wird auch hier ein stark erniedrigter Wert gefunden.

Figure 2

Figure 2 shows the results of the experiment, showing the results of the experiment, showing the results of the experiment.

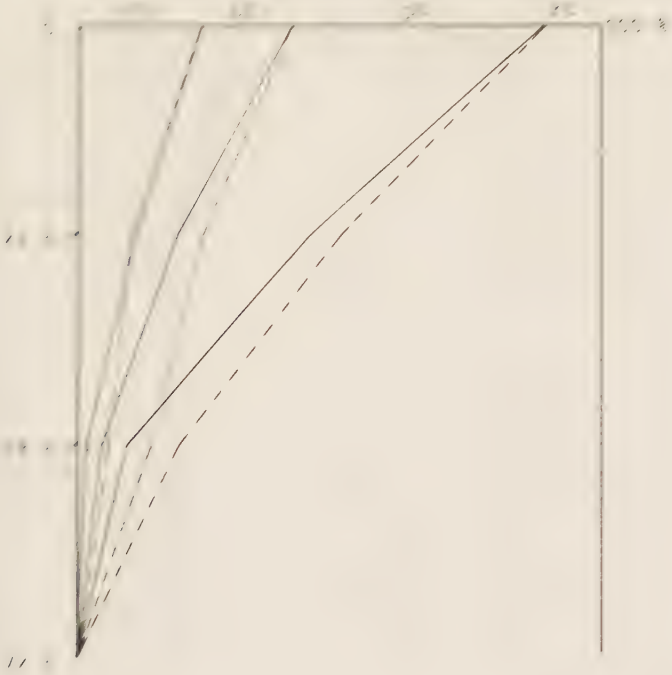
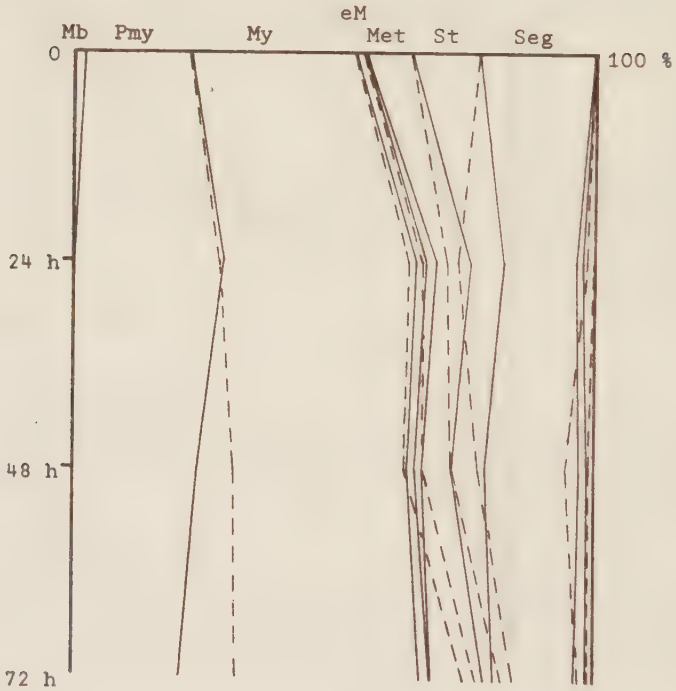


Figure 2 shows the results of the experiment, showing the results of the experiment, showing the results of the experiment.

Abbildung 4

Reifungskurve der Granulopoese, Versuch 2



———— = Kontrolle mit Eigenserum und -plasma
----- = Versuch mit Fremdserum und -plasma

3.3 Versuch 3

Knochenmarkspender: G.D., geb. 9.9.39

Auch hier handelt es sich um einen Patienten mit chronisch-myeloischer Leukämie, die bis zum Zeitpunkt der Knochenmarkpunktion unbehandelt war. Bisherige sonstige Medikation: Valium[®], Doryl[®], Bisolvon[®]. Knochenmarkpunktion am 13.3.73: chronisch-myeloische Leukämie.

Blutbild vom 12.3.73:

Hb: 15,0 g/100 ml

Ery: 4,75 Mio/ μ l

Leuko: 83000/ μ l

Bas: 2,0 %

Mb: 0,5 %

Mikrobl: 3,0 %

Parabl: 1,0 %

Pmy: 8,0 %

My: 3,5 %

Met: 8,0 %

St: 17,5 %

Seg: 52,5 %

Lym: 3,5 %

Mo: 0,5 %

Thrombo: 88000/ μ l

Serum- und Plasmaspender: A.R., geb. 30.9.92

Bei diesem Patienten bestand ein schon inoperabler Colontumor. Es wurden vor der Blutentnahme Novodigal[®], Bactrim[®] und Ferrlecit[®] verabreicht. Ergebnis der Knochenmarkpunktion: tumoröser oder chronisch entzündlicher Prozess.

Blutbild vom 6.3.73:

Hb: 9,3 g/100 ml

Ery: 3,65 Mio/ μ l

Leuko: 10300/ μ l

Met: 2 %

St: 21 %

Seg: 63 %

Lym: 8 %

Mo: 6 %

Thrombo: 265000/ μ l

3.3.1 Reifungskurven

Erythropoese (Abb. 5)

Auch bei diesem Fall finden sich mit zunehmender Kultivierungsdauer immer weniger teilungsfähige Erythroblasten. Die Kurve der Versuchspräparate ist gegenüber der Kontrollkurve hier deutlich nach links verschoben. Da die Serum- und Plasmaspenderin anämisch war, könnte diese Verschiebung auf einer Erythropoietinwirkung beruhen.

Granulopoese (Abb. 6)

Die Kurve der Versuchskulturen zeigt nach 24 und nach 48 Stunden gegenüber der der Kontrollkulturen eine starke Verlagerung nach rechts, nach 72 Stunden ist dieser Unterschied am wenigsten ausgeprägt.

3.3.2 G/E-Index (Tab. 1)

Der bei beiden Kulturen zu beobachtende Anstieg des G/E-Index verläuft bis 48 Stunden fast parallel, nach 72 Stunden liegt der Wert für die Kontrolle wesentlich höher als der Versuchswert.

3.3.3 Mitoseindices

Roter Mitoseindex (Tab. 2)

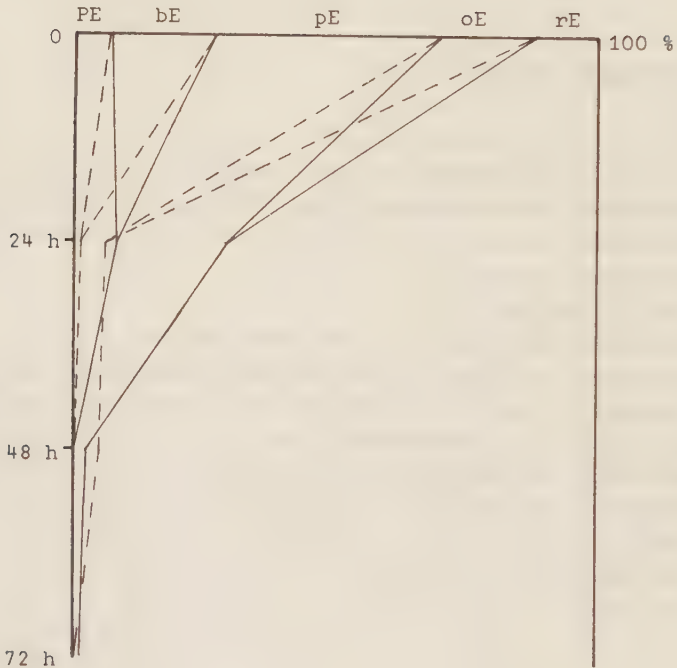
Bei der unter der Bebrütung rasch abnehmenden Zahl von teilungsfähigen Erythroblasten finden sich bis auf eine Ausnahme (das Kontrollpräparat nach 24 Stunden weist eine Mitose auf) Mitoseindices von Null.

Weisser Mitoseindex (Tab. 3)

In beiden Kulturen erreicht der weisse Mitoseindex ein Maximum nach 24 Stunden. Anschliessend sind weniger Mitosen zu beobachten, nach 72 Stunden ist in beiden Präparaten der niedrige Wert des Originalpräparates fast wieder erreicht. Die Unterschiede zwischen Kontrolle und Versuch sind in diesem Fall gering.

Abbildung 5

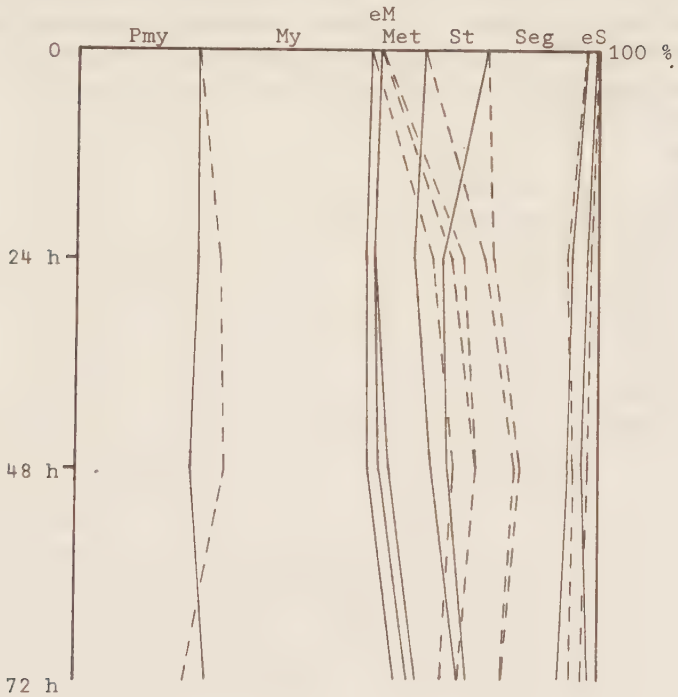
Reifungskurve der Erythropoese, Versuch 3



———— = Kontrolle mit Eigenserum und -plasma
----- = Versuch mit Fremdserum und -plasma

Abbildung 6

Reifungskurve der Granulopoese, Versuch 3



———— = Kontrolle mit Eigenserum und -plasma

- - - - = Versuch mit Fremdserum und -plasma

3.4 Versuch 4

Knochenmarkspender: R.P., geb. 7.2.91

Dieser Patient kam wegen eines Gallenblasenhydrops in stationäre Behandlung. Bei der routinemässigen Durchuntersuchung wurde ausserdem eine chronisch-myeloische Leukämie entdeckt.

Medikation bis zur Knochenmarkpunktion: Terravenös®.

Knochenmarkpunktion: chronisch-myeloische Leukämie.

Blutbild vom 24.1.72:

Hb: 15,2 g/100 ml

Ery: 3,84 Mio/ μ l

Leuko: 110000/ μ l

Bas: 1 %

My: 3 %

Met: 2 %

St: 24 %

Seg: 46 %

Lym: 1 %

Mo: 23 %

Serum- und Plasmaspender: A.O., geb. 1.12.10

Frau O. wurde wegen einer Linksherzinsuffizienz bei Aortenstenose und Zustand nach Herzinfarkt behandelt. Der Allgemeinzustand der Patientin war äusserst schlecht, eine Sepsis komplizierte das Krankheitsbild. Eine Knochenmarkpunktion ergab das Bild eines septischen Zustandes. Therapie: Valium[®], Cebion[®], Progynova[®], Lanicor[®], Dilcoran 80[®], Ultracorten[®].

Blutbild vom 20.1.72:

Hb:	8,5 g/100 ml
Ery:	2,2 Mio/ μ l
Leuko:	1900/ μ l
St:	5 %
Seg:	18 %
Lym:	76 % (atypisch)
Mo:	1 %
Thrombo:	14000/ μ l

3.4.1 Reifungskurven

Erythropoese (Abb. 7)

Im Vergleich mit der Kontrolle ist die Versuchskurve nach 24 Stunden stark nach links verschoben, nach 48 und besonders nach 72 Stunden ergibt sich das umgekehrte Bild. Die Linksverschiebung nach 24 Stunden könnte auch hier - wie im Versuch 3 - durch Erythropoietin hervorgerufen worden sein, denn auch diese Serum- und Plasmaspenderin hatte eine Anämie.

Granulopoese (Abb. 8)

Hier zeigt sich schon nach 24 Stunden wieder eine Verschiebung der Versuchskurve nach rechts, die bei einer Kultivierungsdauer von 48 Stunden weiter zunimmt. Nach 72 Stunden sind beide Präparate ähnlich zusammengesetzt.

3.4.2 G/E-Index (Tab. 1)

In beiden Präparaten steigt der G/E-Index im Laufe der Bebrütung an. Nach einem Tag liegt der Kontrollwert, nach zwei Tagen der Versuchswert höher. Am dritten Tag besteht ein nur geringer Unterschied, der G/E-Index des Versuchspräparates liegt hier höher.

3.4.3 Mitoseindices

Roter Mitoseindex (Tab. 2)

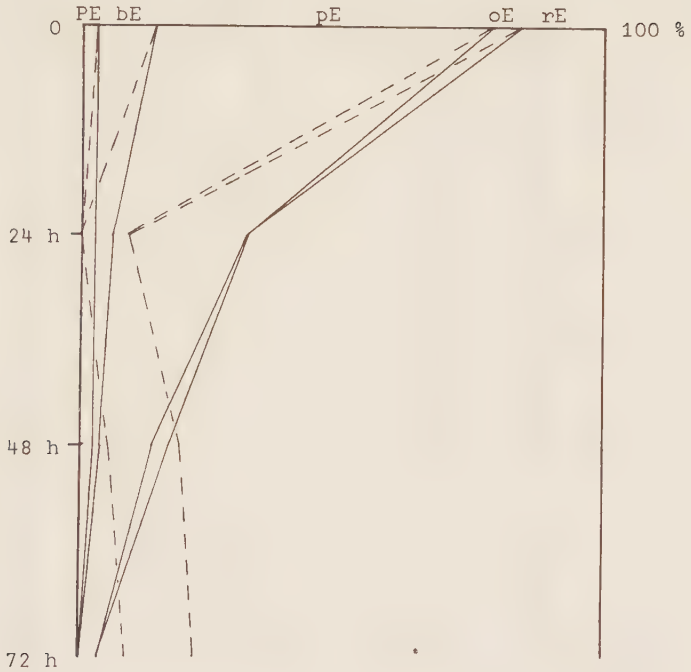
In beiden Kulturen finden sich bei 2000 differenzierten Zellen pro Präparat nur jeweils 10 bis 48 teilungsfähige Erythroblasten. Diese wenigen Zellen weisen keine Mitose auf.

Weisser Mitoseindex (Tab. 3)

Die Mitoseindices in beiden Kulturen sind niedriger als im Originalausstrich. Im Versuchspräparat liegen nach 24 Stunden und 48 Stunden die Werte höher als im Kontrollpräparat. Nach 72 Stunden schliesslich zeigen sich im Versuch weniger Mitosen als in der Kontrolle.

Abbildung 7

Reifungskurve der Erythropoese, Versuch 4

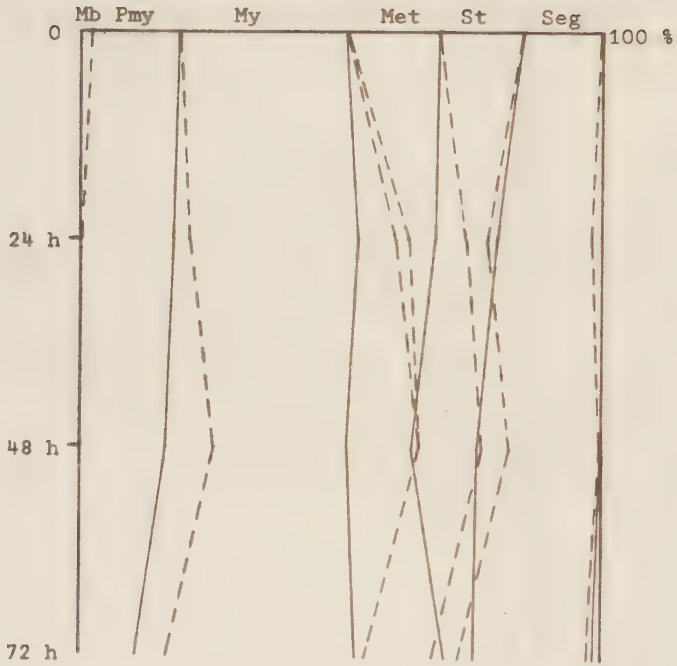


———— = Kontrolle mit Eigenserum und -plasma

- - - - = Versuch mit Fremdserum und -plasma

Abbildung 8

Reifungskurve der Granulopoese, Versuch 4



———— = Kontrolle mit Eigenserum und -plasma

- - - - = Versuch mit Fremdserum und -plasma

3.5 Versuch 5

Knochenmarkspender: B.B., geb. 27.9.50 (dieselbe Patientin wie in Versuch 2)

In den letzten Monaten vor der Knochenmarkpunktion nahm sie keine Medikamente ein. Diagnose: chronisch-myeloische Leukämie. Blutbild vom 30.10.73:

Hb :	12,4 g/100 ml
Ery:	4,2 Mio/ μ l
Leuko:	42000/ μ l
Bas:	13 %
Eo:	3 %
Mb:	10 %
Pmy:	5 %
My:	4 %
Met:	6 %
St:	15 %
Seg:	42 %
Lym:	2 %
Thrombo:	2140000/ μ l

Bei dem Serum- und Plasmaspender handelte es sich um eine gesunde Versuchsperson, bei der keine Untersuchungen vorgenommen wurden.

Ausser den Kulturen mit Eigenserum und -plasma sowie Fremdserum und -plasma wurden bei diesem Versuch zusätzliche Kulturen angesetzt, die nur mit Hank's Lösung versetzt wurden. Hierbei interessierte besonders der Vergleich mit den Kontrollkulturen. Es sollte gezeigt werden, ob der Einfluss auf die Proliferation des Knochenmarks vom fremden oder vom eigenen Serum und Plasma ausgeht.

Leider waren hier nach 72 Stunden in sämtlichen Präparaten kaum noch intakte Zellen vorhanden, so dass eine Zelldifferenzierung nur bis 48 Stunden möglich war.

3.5.1 Reifungskurven

Erythropoese (Abb. 9, 10)

Die Kurve des Versuchs ist gegenüber der Kontrolle nach rechts verschoben. Dasselbe gilt für die Kurve der mit Hank's Lösung versehenen Kulturen.

Granulopoese (Abb. 11, 12)

Die Normalserum-Kurve ist nach 24 Stunden und nach 48 Stunden im Vergleich zur Kontrollkurve nach rechts verschoben. Im Zusatzversuch mit Hank's Lösung zeigt sich nach 24 Stunden eine geringe Verschiebung nach links und nach 48 Stunden eine ebenfalls nur geringfügige Verschiebung der Reifungskurve nach rechts.

3.5.2 G/E-Index (Tab. 1)

Nach 24 Stunden liegt der G/E-Index des Normalserum-Versuchs deutlich unter den Werten des Kontroll- und Hank-Zusatzpräparates. Nach 48 Stunden finden sich in allen Kulturen nur noch ganz vereinzelt Zellen der Erythropoese, so dass die G/E-Indices überall sehr stark erhöht sind.

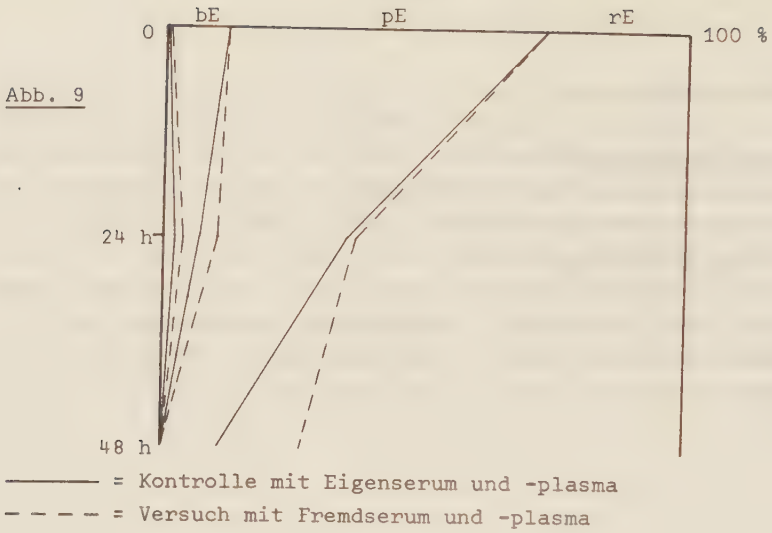
3.5.3 Mitoseindices

Roter Mitoseindex (Tab. 2)

In keinem der untersuchten Präparate können Mitosen von Erythroblasten beobachtet werden.

Weisser Mitoseindex (Tab. 3)

Die Mitoseindices der Granulopoese sind nach 24 Stunden ebenso wie nach 48 Stunden im Normalserum-Versuch höher als im Eigenserum-Versuch und auch im Zusatzversuch mit Hank's Lösung.



Reifungskurven der Erythropoese, Versuch 5

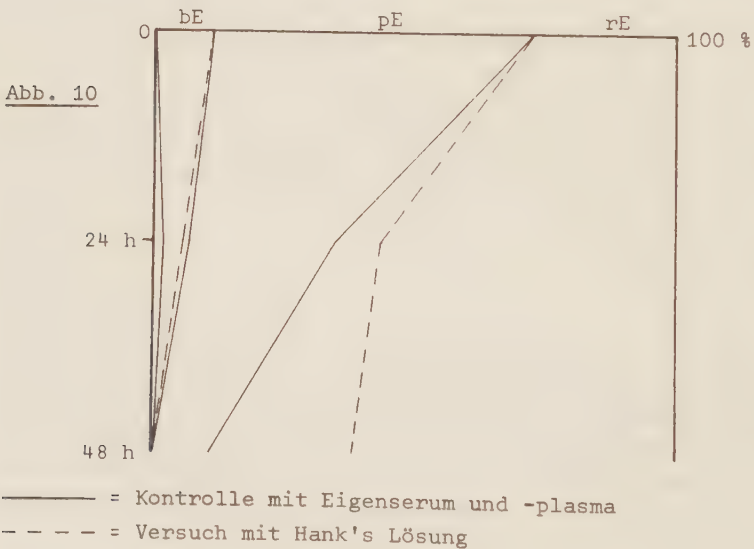
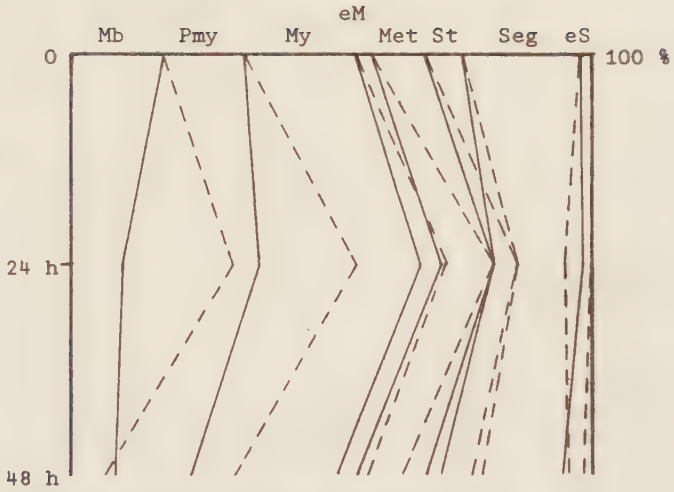
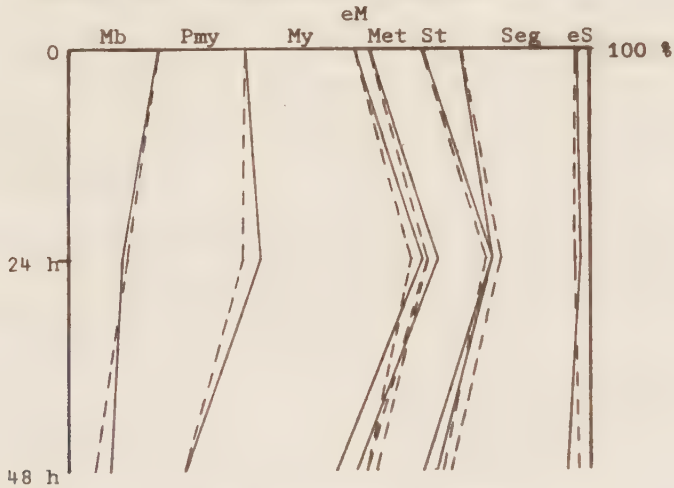


Abb. 11



— = Kontrolle mit Eigenserum und -plasma
 - - - = Versuch mit Fremdserum und -plasma

Abb. 12



— = Kontrolle mit Eigenserum und -plasma
 - - - = Versuch mit Hank's Lösung

Reifungskurven der Granulopoese, Versuch 5

3.6 Tabellen

Tabelle 1

G/E-Indices

Vers.	Orig.	Kontrolle mit Eigen- serum und -plasma			Versuch mit Fremd- serum und -plasma		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
1	7,01	7,43	15,53	10,96	17,42	6,71	12,79
2	17,02	18,01	22,27	48,10	32,72	38,31	48,57
3	7,54	16,09	41,95	28,59	18,19	38,25	96,20
4	8,81	13,46	13,52	40,00	10,67	25,95	41,70
5	17,22	33,53	73,93		9,80	74,67	

Mittelwerte (aus den absoluten Zahlen errechnet)

10,06	14,32	23,01	21,93	15,10	20,03	30,44
-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------

Hank's Lösung (Versuch 5)

25,96 163,38

Tabelle 2

Rote Mitoseindices

Vers.	Orig.	Kontrolle mit Eigen- serum und -plasma			Versuch mit Fremd- serum und -plasma		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
1	4,17	12,66	0	0	0	14,49	0
2	10,20	19,61	0	0	33,33	0	0
3	14,63	28,57	0	0	0	0	0
4	5,95	0	0	0	0	0	0
5	23,81	0	0		0	0	

Mittelwerte (aus den absoluten Zahlen errechnet)

10,06	12,82	0	0	5,85	10,10	0
Hank's Lösung (Versuch 5)				0	0	

Tabelle 3

Weisse Mitoseindices

Vers.	Orig.	Kontrolle mit Eigen- serum und -plasma			Versuch mit Fremd- serum und -plasma		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
1	8,48	13,92	6,80	7,80	9,79	5,92	5,87
2	10,62	8,84	7,86	3,91	12,62	12,94	2,99
3	3,41	10,33	5,09	4,34	9,20	7,79	4,35
4	10,77	4,28	1,65	7,68	7,50	5,22	1,54
5	11,95	1,27	3,64		8,44	6,94	

Mittelwerte (aus den absoluten Zahlen errechnet)

"	9,16	7,63	4,94	6,12	9,34	7,84	3,73
Hank's Lösung (Versuch 5)					2,81	2,62	

3.7 Versuch 6

Im Versuch 5 zeigte sich, dass die Zugabe von Hank's Lösung anstatt Eigenserum und -plasma, das heisst eine Konzentrationsverminderung im Serum mutmasslich vorhandener regulatorischer Faktoren, keinen grossen Einfluss auf die Proliferation des Knochenmarkes hatte. Um zu überprüfen, ob diese Aussage auch für andere Fälle zutrifft, wurde zusätzlich eine weitere Untersuchung vorgenommen, bei der das Knochenmark nicht von einem leukämiekranken Patienten stammte. Die Ergebnisse aus diesem Versuch fanden daher bei der Errechnung der Mittelwerte auch keine Berücksichtigung.

Knochenmarkspender: M.T., geb. 14.10.01

Die stationäre Aufnahme erfolgte wegen axillärer und inguinaler Lymphknotenschwellungen. Die histologische Untersuchung eines excidierten Lymphknotens ergab: Retothelsarkom. Knochenmarkpunktion am 25.5.73: kein Anhalt für Systemerkrankung, keine sekundären Tumorzeichen. Bisherige Medikation: Lanicor®. Blutbild vom 17.5.73:

Hb: 13,2 g/100 ml

Ery: 4,56 Mio/ μ l

Leuko: 11000/ μ l

Bas: 1 %

Seg: 77 %

Lym: 18 %

Mo: 4 %

Serum- und Plasmaspender: E.T., geb. 31.10.95

Es handelte sich hier um eine Patientin mit chronisch-lymphatischer Leukämie, die wegen ständiger Müdigkeit und Abgespanntheit und mit multiplen Lymphknotenschwellungen zur stationären Aufnahme kam. Bis zur Blutentnahme bestand die medikamentöse Therapie aus Zyloric®. Knochenmarkpunktion am 22.5.73: chronisch-lymphatische Leukämie.

Blutbild vom 22.5.73:

Hb: 9,6 g/100 ml

Ery: 3,3 Mio/ μ l

Leuko: 133000/ μ l

Mb: 1 %

Seg: 1 %

Lym: 98 %

Thrombo: 152000/ μ l

3.7.1 Reifungskurven

Granulopoese (Abb. 13, 14)

Im Vergleich zur Kontrollkurve zeigt sich eine starke Verlagerung der Fremdserum- und Fremdplasma-Versuchskurve nach rechts, während die Kurve der mit Hank's Lösung versehenen Kulturen wesentlich weniger, aber gleichsinnig von der Kontrollkurve abweicht. Auch hier ergibt sich also, dass Hank's Lösung nur einen geringen Einfluss (jedenfalls im Vergleich zu Fremdserum und -plasma) auf die Reifung von Knochenmark in vitro ausübt.

3.7.2 G/E-Index

In allen drei Kulturen steigt der G/E-Index an, am geringsten in der Kultur mit Hank's Lösung.

Tabelle 4

Orig.: 5,16

	24 h	48 h	72 h
Kontrolle mit Eigen- serum und -plasma	5,25	5,61	27,60
Versuch mit Fremd- serum und -plasma	3,29	8,75	14,77
Hank's Lösung	4,73	8,50	7,68

3.7.3 Weisser Mitoseindex

Der weisse Mitoseindex erfährt in allen drei Präparaten eine starke Erhöhung nach 24 Stunden, um anschliessend rapide abzufallen. Die Ergebnisse sind zu uneinheitlich, um vergleichbar zu sein

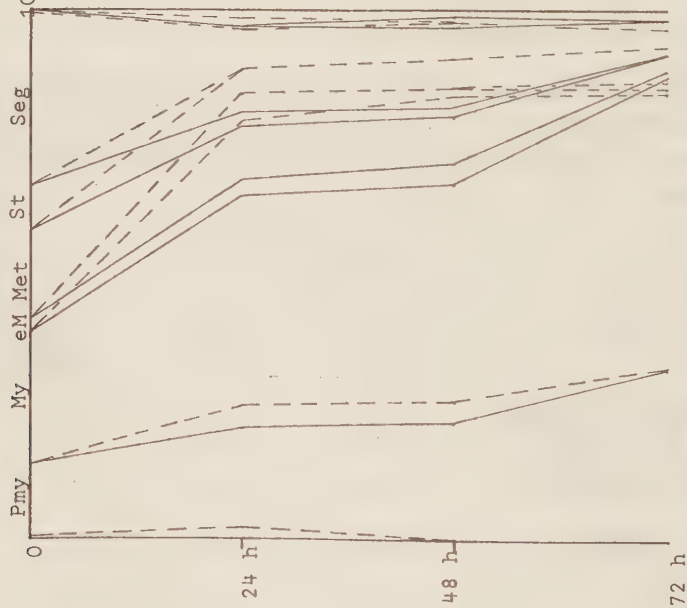
Tabelle 5

Orig.: 3,30

	24 h	48 h	72 h
Kontrolle mit Eigen- serum und -plasma	21,66	2,24	1,13
Versuch mit Fremd- serum und -plasma	23,56	1,23	0
Hank's Lösung	29,19	1,98	0

Abb. 13

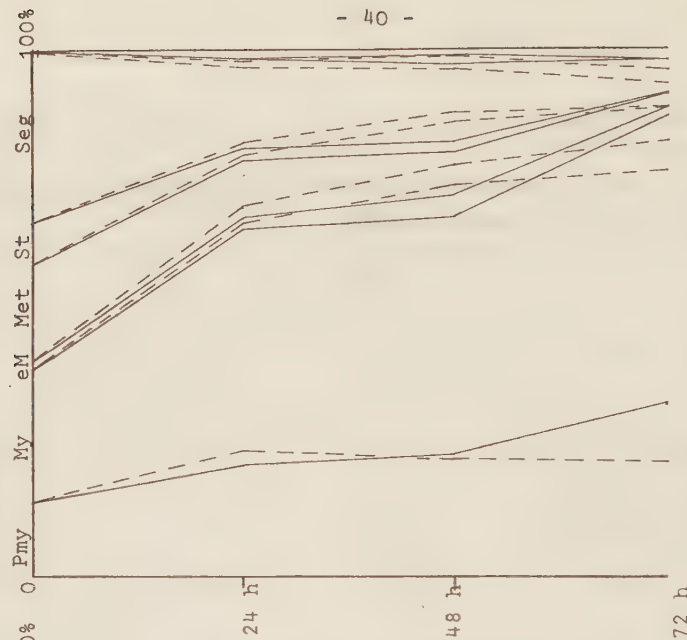
Reifungskurven der Granulopoese, Versuch 6



— = Kontrolle mit Eigenserum und -plasma
 - - = Versuch mit Fremdserum und -plasma

Abb. 14

Reifungskurven der Granulopoese, Versuch 6



— = Kontrolle mit Eigenserum und -plasma
 - - = Versuch mit Hank's Lösung

3.8 Mittelwerte

3.8.1 Reifungskurven aus den Mittelwerten von Versuch 1 - 5

Erythropoese (Abb. 15, 16)

In der Erythropoese sind die Ergebnisse uneinheitlich. In den Versuchen 3 und 4 finden sich nach 24 Stunden in den Versuchskulturen relativ weniger unreife Erythroblasten als in den Kontrollkulturen, es liegt also eine Reifungsbeschleunigung vor. In den anderen 3 Versuchen besteht dagegen eine Reifungshemmung. Da das Fremdserum bei den beiden Versuchen mit Reifungsbeschleunigung von anämischen Spendern entnommen war, kann aus den Ergebnissen bei der Erythropoese nur geschlossen werden, dass sie auch bei chronisch-myeloischer Leukämie erythropoietinabhängig reagiert.

Granulopoese (Abb. 17)

Die Reifungskurve der Versuchskulturen weist gegenüber der Kontrolle eine deutliche Verschiebung nach rechts auf, und zwar besonders nach 24 und 48 Stunden. Bei einer Bebrütungsdauer von 72 Stunden nähern sich die Kurven wieder einander an. Hieraus kann geschlossen werden, dass unter den gegebenen Versuchsbedingungen ein Einfluss von Fremdserum und -plasma auf die Reifung der granulopoetischen Zellen des Knochenmarks von Kranken mit chronisch-myeloischer Leukämie besteht: Die Zugabe der genannten fremden Blutbestandteile bewirkt, dass an den ersten beiden Tagen vermehrt junge teilungsfähige Vorstufen der Granulocyten gebildet werden, während am dritten Tag eine stärkere Ausreifung als in den Kontrollkulturen stattfindet.

3.8.2 Mittlere weisse Mitoseindices aus Versuch 1 - 5 (Abb.18)

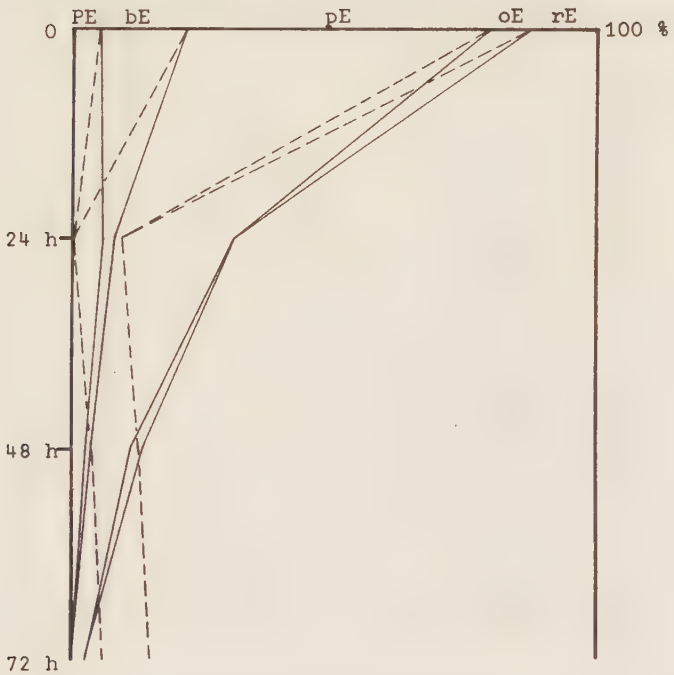
Sowohl nach 24 als auch nach 48 Stunden liegt im Versuch der weisse Mitoseindex höher als in der Kontrolle, nach 72 Stunden kehren sich die Verhältnisse um. Die Zugabe von Fremdserum und -plasma führt also an den beiden ersten Tagen zu verstärkter Teilungsaktivität der Granuloblasten, die als Ursache für deren Vermehrung angesehen werden kann (Abb. 17).

3.8.3 Karyologische Kurve der Granulopoese (Abb. 19)

Aus allen in den Versuchen 1 bis 5 nach Zusatz von Eigenserum und -plasma und Fremdserum und -plasma registrierten Mitosen der Granuloblasten wurde zur Übersicht über die Mitosephasenverteilung eine karyologische Kurve angefertigt. Bei den mit Eigenserum und -plasma versehenen Kulturen wurden 119 Mitosen beobachtet, die entsprechende Zahl für die anderen Kulturen beträgt 145.

Abbildung 15

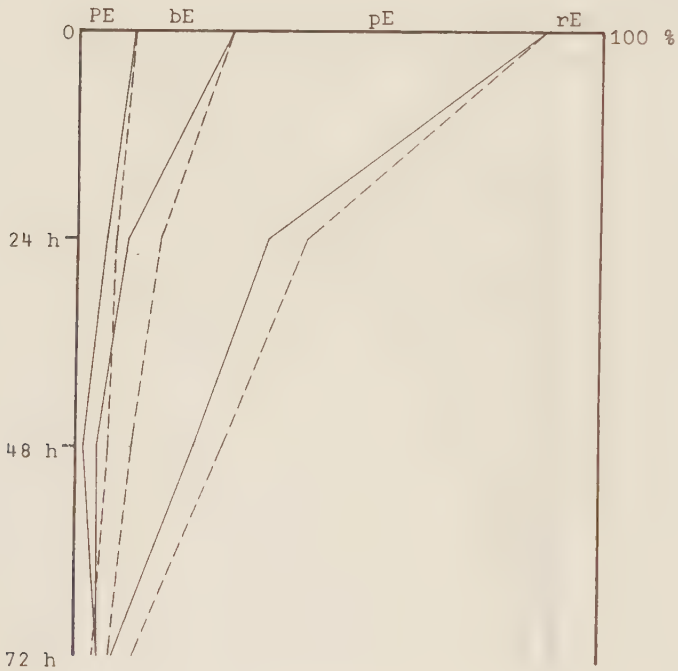
Mittelwertreifungskurve der Erythropoese, Versuche 3, 4



———— = Kontrolle mit Eigenserum und -plasma
----- = Versuch mit Fremdserum und -plasma

Abbildung 16

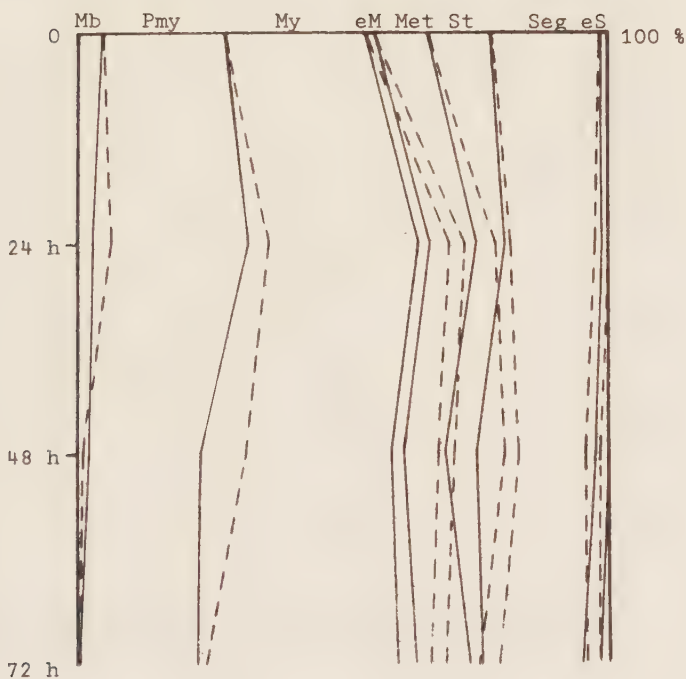
Mittelwertreifungskurve der Erythropoese, Versuche 1, 2, 5



———— = Kontrolle mit Eigenserum und -plasma
----- = Versuch mit Fremdserum und -plasma

Abbildung 17

Mittelwertreifungskurve der Granulopoese, Versuche 1 - 5

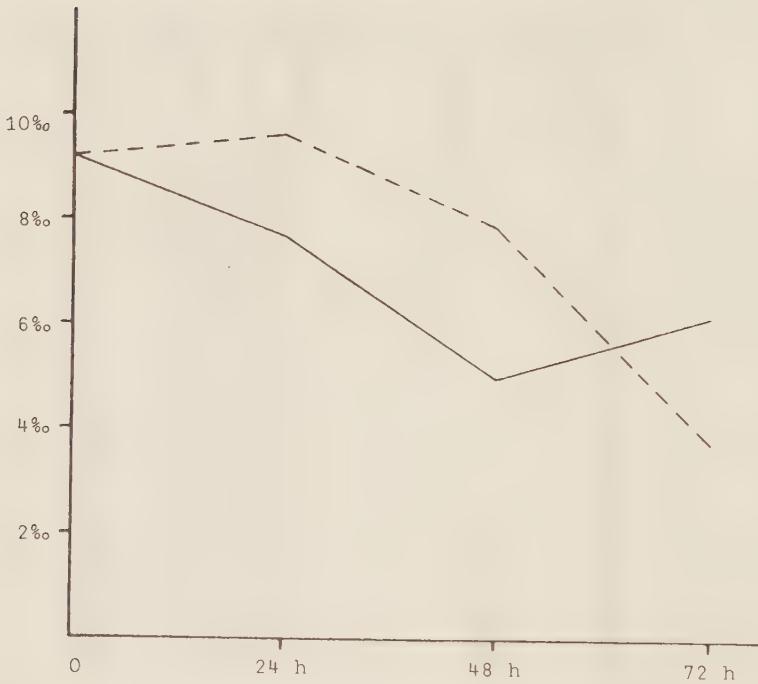


———— = Kontrolle mit Eigenserum und -plasma

----- = Versuch mit Fremdserum und -plasma

Abbildung 18

Mittlere weisse Mitoseindices

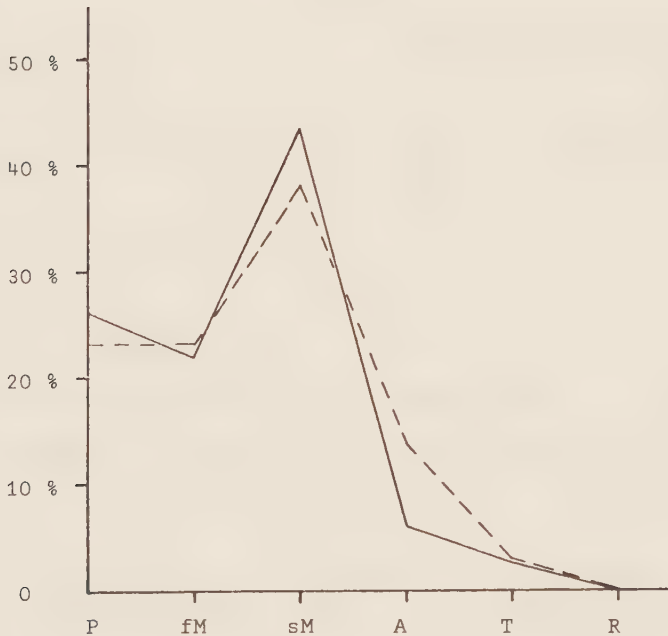


———— = Kontrolle mit Eigenserum und -plasma

- - - - = Versuch mit Fremdserum und -plasma

Abbildung 19

Karyologische Kurve der Granulopoese



———— = Kontrolle mit Eigenserum und -plasma

- - - - = Versuch mit Fremdserum und -plasma

P = Prophase

fM = frühe Metaphase

sM = späte Metaphase

A = Anaphase

T = Telophase

R = Rekonstruktionsphase

3.9 Ergebnisse der Signifikanzberechnung

3.9.1 Signifikanz der Unterschiede in den Differentialzellverteilungen der Granulopoese

Tabelle 6

Irrtumswahrscheinlichkeit p

Versuch	24 h	48 h	72 h
1	$< 0,001$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-5}$
2	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$
3	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$
4	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	$< 10^{-8}$
5	$< 10^{-10}$	$< 10^{-10}$	

Die Irrtumswahrscheinlichkeit ist in allen Versuchen zu allen beobachteten Zeitpunkten sehr viel geringer als 0,01; die Ergebnisse sind also signifikant.

Für Versuch 5 mit Hank's Lösung ergeben sich folgende Resultate: nach 24 Stunden ist $p = 0,12$, dieses Ergebnis ist nicht signifikant. Nach 48 Stunden beträgt der Wert 10^{-5} . Obwohl es sich hierbei um ein signifikantes Ergebnis handelt, ist die Irrtumswahrscheinlichkeit jedoch sehr viel grösser als im entsprechenden Versuch mit Fremdserum und -plasma.

3.9.2 Signifikanz der Mitosehäufigkeit

Die Unterschiede der Mitoseraten in Versuch und Kontrolle sind nicht signifikant. Die Irrtumswahrscheinlichkeit p beträgt nach 24 Stunden 0,22, nach 48 Stunden 0,05 und nach 72 Stunden 0,08.

4. Diskussion

Aus den geschilderten Versuchsergebnissen lässt sich folgern, dass in vitro die Granulopoese im Knochenmark von Patienten mit chronisch-myeloischer Leukämie durch fremdes nichtleukämisches Serum und Plasma eine Stimulation erfährt. Die Verlagerung der Reifungskurven nach rechts kann sowohl Ausdruck einer Erhöhung der Mitoserate als auch einer Verkürzung der Überlebenszeit der reifen Granulocyten sein. Ein im Vergleich zu den Kontrollkulturen erhöhter weisser Mitoseindex liegt nun tatsächlich zu den Zeitpunkten vor, an denen die Reifungskurven am deutlichsten verschoben sind (nach 24 und 48 Stunden). Nach der karyologischen Kurve kann die Erhöhung des Mitoseindex nicht auf einer Mitosehemmung beruhen. Eine mögliche Verkürzung der Lebensdauer der ausgereiften Zellen kann mit der hier angewandten Untersuchungsmethode nicht bewiesen werden. Beide Mechanismen - die Erhöhung des weissen Mitoseindex und die verkürzte Lebensdauer der Granulocyten - würden einer 'Normalisierung' des leukämischen Knochenmarkes entsprechen.

Bei einer Untersuchung mit ähnlicher Versuchsanordnung (mit Fremdplasma, aber ohne Fremdserum - also nur 50 % heterologes Medium, wir haben 90 %) fand GERHARDT (1968) in 2 Fällen eine Veränderung der Reifungskurven wie oben beschrieben. Der weisse Mitoseindex war jedoch in ihren Versuchen nicht erhöht, sondern leicht erniedrigt. Das Ergebnis wurde als Ausreifungshemmung interpretiert. Mit der zusätzlichen Gabe von Fremdserum anstelle von Eigenserum wurde jetzt offenbar eine für die Steigerung der Mitoserate notwendige Konzentrationserhöhung des wirksamen Stoffes erreicht. Über die Reifungskurven und Mitoseindices nach Normalplasma-Zugabe berichteten auch BOLL und MERSCH 1969.

Unsere Ergebnisse lassen sich mit den Untersuchungen von WETHERLEY-MEIN und COTTOM aus dem Jahre 1956 in Einklang bringen. Diese Autoren sprachen von einem "Anti-Leukämie-Faktor",

der in frischem Blut normaler Individuen vorhanden sein müsse. Sie beobachteten unterschiedliche Reaktionen nach Transfusionen frischer und gelagerter Blutkonserven bei Leukämie-Patienten. Die Leukocyten-Zählungen im peripheren Blut ergaben nach Frischbluttransfusionen deutlich niedrigere Werte als nach der Übertragung gelagerten Blutes, woraus auf eine temporäre Remission der Erkrankung geschlossen wurde. WETHERLEY-MEIN und COTTOM waren sich allerdings bewusst, dass bei ihrer Versuchsanordnung noch viele andere Regulationsmechanismen der Granulopoese eine Rolle spielen konnten als ihr hypothetischer "Anti-Leukämie-Faktor". Vor allem konnte über den direkten Einfluss auf das Knochenmark der Patienten keine Aussage getroffen werden, da ja der gesamte Organismus, und mit ihm seine eigenen Regulationsmechanismen der Granulopoese (nervale, hormonale und humorale) reagierten.

In der Literatur über die humorale Regulation der Granulopoese werden heute besonders zwei Stoffe diskutiert: der Colony-stimulating-factor (BRADLEY und METCALF 1966) mit einer die myeloischen Stammzellen stimulierenden Wirkung, und das Granulocytenchalon (BULLOUGH und RYTÖMAA 1965), welches die Mitoserate der Granuloblasten herabsetzt.

Der Colony-stimulating-factor (CSF) ist ein Glykoproteid mit einem Molekulargewicht von ca. 45000, das schon aus menschlichen Leukocyten (GOLDMANN 1974), aus menschlichem Serum (METCALF 1973) und Urin (STANLEY 1969), sowie aus verschiedenen Geweben von Mäusen (SHERIDAN 1971) extrahiert wurde. Bei der von diesen Autoren angewandten Art der Kultivierung von myeloischen Stammzellen (Colony-forming-cells, CFC) auf Agarnährböden wachsen bei Anwesenheit von CSF Zellkolonien, aus deren Art und Anzahl auf die Konzentration des stimulierenden Faktors geschlossen wird.

Bei Patienten mit chronisch-myeloischer Leukämie werden sowohl im Serum (METCALF 1973) als auch im Urin (ROBINSON 1970) erhöhte CSF-Spiegel gefunden. GOLDMANN (1974) untersuchte den CSF-Gehalt der Blutleukocyten bei unbehandelter und bei cyto-statisch behandelter chronisch-myeloischer Leukämie. Die behandelten Patienten wiesen einen normalen Gehalt auf, bei den unbehandelten war er erniedrigt. Wenn Granuloblasten von Patienten mit unbehandelter chronisch-myeloischer Leukämie zusammen mit aus normalen Leukocyten gewonnener Nährlösung kultiviert wurden, kam es zu normalem Wachstum der üblichen Kolonien (METCALF 1973). Ausser dem Colony-stimulating-factor wies METCALF 1971 auch einen hemmenden Faktor in gesunden und leukämischen Zellkulturen nach, ein Lipoprotein, das er CSF-inhibitor nannte.

Das Granulocytenchalon ist ein Polypeptid mit einem Molekulargewicht von 2000 - 3000 (PAUKOVITS 1973). Wie auch das Epidermis-Chalon und das Leberchalon ist es gewebespezifisch, aber nicht artspezifisch (PAUKOVITS 1969). Untersuchungen in vitro zeigten, dass es sowohl die Zahl der teilungsfähigen Granuloblasten reduziert, als auch die DNS-Synthese in diesen Zellen hemmt (RYTÖMAA 1967). Bei in vivo-Versuchen mit Ratten konnte durch Granulocytenchalon in einigen Fällen eine generalisierte Leukämie (Chloroleukämie) vollständig und anhaltend geheilt werden (RYTÖMAA, KIVINIEMI 1970). Neben dem Granulocytenchalon wurde von diesen Autoren auch ein Faktor mit gegenteiliger Wirkung, das granulocytische Antichalon, gefunden. *

Es ist möglich, aber nicht beweisbar, dass die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen durch nichtleukämisches Serum und Plasma hervorgerufenen Veränderungen des leukämischen Knochenmarkes auf einen oder mehrere dieser Faktoren zurückzuführen sind. Bei zusätzlichen Versuchen, die anstatt mit Fremdserum und -plasma nur mit Hank's Lösung kultiviert wurden, zeigte sich jedenfalls kein nennenswerter Effekt.

5. Zusammenfassung

Die Proliferation menschlicher Knochenmarkszellen bei chronisch-myeloischer Leukämie im autologen Medium wurde verglichen mit der im nicht leukämischen Medium. Bei der Kultivierung mit nicht leukämischem Fremdserum und -plasma steigt der weisse Mitoseindex bis 48 Stunden an, und die teilungsfähigen Granuloblasten sind relativ vermehrt. Später kommt es in beiden Kulturarten zur Ausreifung. Die beschriebenen Veränderungen sprechen für eine Normalisierung der Proliferation in der Kultur. Eventuell spielt bei der Änderung der Differentialzellverteilung auch noch eine Verkürzung der bei chronisch-myeloischer Leukämie verlängerten Granulocyten-Lebensdauer eine Rolle.

Die Ergebnisse der Erythropoese sind wegen der insgesamt niedrigen Zahl an Erythroblasten (hoher G/E-Index bei chronisch-myeloischer Leukämie) nur bedingt aussagekräftig. Durch normales Fremdserum und -plasma wird eine Reifungshemmung, und durch Anämieserum und -plasma eine Reifungsförderung hervorgerufen.

Literaturverzeichnis

ATHENS, J.W., RAAB, S.O., HAAB, O.P., BOGGS, D.R.,
ASHENBRUCKER, H., CARTWRIGHT, G.E., WINTROBE, M.M.:
Leukokinetik Studies. X. Blood Granulocyte Kinetics in
Chronic Myelocytic Leukemia.
J. Clin. Invest. 44, 765, 1965.

BELITZ, H.J.:

Die Anwendung statistischer Methoden in der Biologie.
Sonderdruck aus "Der Mathematikunterricht".
Klett, Stuttgart, Heft 3, 1960.

BENNET, J.H.:

Case of Hypertrophy of the Spleen and Liver in which Death
Took Place from Suppuration of the Blood.
Edinb. med. J. 64, 413, 1845.

BIERMAN, H.R.:

The Leukemias - Proliferative or Accumulative?
Blood 30, 238, 1967.

BOLL, I.:

The maturation of normal granulocytopoiesis in vitro compared
with that of chronic myelocytic leukemia.
Sangre 9, 41, 1964.

BOLL, I.:

Granulocytopoese unter physiologischen und pathologischen Be-
dingungen.
Experimentelle Medizin, Pathologie und Klinik 17.
Springer, 1966.

BOLL, I., MERSCH, G.:

Morphologische Untersuchungen zur Proliferationskinetik der normalen und pathologischen Granulozytopoese in vitro.

Blut XIX, 257, 1969.

BOLL, I.:

Leitfaden der cytologischen Knochenmarksdiagnostik.

Hämatologie und Bluttransfusion 11.

Lehmann, München, 1973.

BRADLEY, T., METCALF, D.:

The Growth of Mouse Bone Marrow Cells in vitro.

Aust. J. Exp. Biol. med. Sci. 44, 287, 1966.

BULLOUGH, W.S., RYTÖMAA, T.:

Mitotic Homeostasis.

Nature 205, 573, 1965.

CARTWRIGHT, G.E., ATHENS, J.W., HAAB, O.P., RAAB, S.O.,

BOGGS, D.R., WINTROBE, M.M.:

Blood granulocyte kinetics in conditions associated with granulocytosis.

Ann. N. Y. Acad. Sci. 113, 963, 1964.

CRADDOCK, C.G., Jr.:

The Physiology of Granulocytic Cells in Normal and Leukemic States.

Amer. J. Med. 28, 711, 1960.

CRAIGIE, D.:

Case of Disease of the Spleen in which Death Took Place in Consequence of the Preserence of Purulent Matter in the Blood.

Edinb. med. J. 64, 400, 1845.

GALBRAIGHT, P.R.:

Studies on the Longevity, Sequestration and Release of the Leukocytes in Chronic Myelogenous Leukemia.

The Canadian Medical Association Journal 95, 511, 1966.

GERHARDT, D.:

Wirkung von leucocytotischem menschlichen Plasma auf die Proliferation menschlichen Knochenmarks in vitro.

Dissertation, Berlin, 1968.

GOLDMAN, J.M., TH'NG, K.H., LOWENTHAL, R.M.:

In Vitro Colony Forming Cells and Colony Stimulating Factor in Chronic Granulocytic Leukaemia.

Br. J. Cancer 30, 1, 1974.

METCALF, D.:

Inhibition of Bone Marrow Colony Formation in Vitro by Dialysable Products of Normal and Neoplastic Haemopoietic Cells.

Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 49, 351, 1971.

METCALF, D.:

Human Leukaemia: Recent Tissue Culture Studies on the Nature of Myeloid Leukaemia.

Br. J. Cancer 27, 191, 1973.

PAUKOVITS, W.R.:

Die Regulation der Zellteilung in normalen und malignen Geweben.

Krebsarzt 4, 221, 1969.

PAUKOVITS, W.R.:

Hemmung der DNA-Synthese unreifer Knochenmarkszellen durch spezifische physiologische Inhibitoren.

Sonderdruck aus: Leukämien und maligne Lymphome.

Urban und Schwarzenberg, München-Berlin-Wien, 1973.

RAAB, S.O., ATHENS, J.W., HAAB, O.P., BOGGS, D.R.,
CARTWRIGHT, G.E., WINTROBE, M.M.:
Leukokinetic Studies in Chronic Myelocytic Leukemia (CML)
Using Radioactive Diisopropylfluorophosphate (DFP³²).
Blood 20, 803, 1962.

ROBINSON, W.A., PIKE, L.:
Leukopoietic Activity in Human Urine. The Granulocytic
Leukemias.
New Eng. J. Med. 282, 1291, 1970.

RYTÖMAA, T., KIVINIEMI, K.:
Regulation System of Blood Cell Production.
Aus: Control of Cellular Growth in Adult Organisms.
Ed. by Harald Teir and Tapio Rytömaa.
Academic Press, London and New York, 106, 1967.

RYTÖMAA, T., KIVINIEMI, K.:
Regression of Generalized Leukaemia in Rat Induced by the
Granulocytic Chalone.
Europ. J. Cancer 6, 401, 1970.

SHERIDAN, J.W., STANLEY, E.R.:
Tissue Sources of Bone Marrow Colony Stimulating Factor.
J. Cell.Physiol. 78, 451, 1971.

STANLEY, E.R., METCALF, D.:
Partial Purification and some Properties of the Factor in
Normal and Leukaemic Human Urine Stimulating Mouse Bone Marrow ,
Colony Growth in Vitro.
Aust. J. exp. Biol. med. Sci. 47, 467, 1969.

WETHERLEY-MEIN, G., COTTOM, D.G.:
Fresh Blood Transfusion in Leukaemia.
Br. J. Haemat. 2, 25, 1956.

Lebenslauf

20.5.43	Als Sohn des Industriekaufmanns Kurt Emberger und seiner Ehefrau Liselotte, geb. Schlottke, in Berlin-Charlottenburg geboren
1949 - 1955	Grundschulbesuch
1955 - 1962	Besuch der Carl-Friedrich-von-Siemens- Oberschule in Berlin-Siemensstadt
1962	Abitur
1962	Beginn des Medizinstudiums an der Freien Universität Berlin
1963	Vorphysikum
1966	Physikum
12.8.69	Ärztliche Prüfung
1.1.70 - 30.4.70	Medizinalassistent in der Geburtshilf- lich-Gynäkologischen Abteilung des Städtischen Auguste-Viktoria-Kranken- hauses in Berlin-Schöneberg
30.4.70	Eheschliessung mit der Arzthelferin Margrit Kutschke
1.5.70 - 31.8.70	Medizinalassistent in der Inneren Abteilung der Grunewald-Klinik in Berlin-Grunewald
1.9.70 - 31.12.70	Medizinalassistent in der Chirurgischen Abteilung des Elisabeth-Krankenhauses in Berlin-Tiergarten
19.1.71	Approbation als Arzt
19.1.71 - 31.12.71	Assistenzarzt in der Chirurgischen Abteilung des Elisabeth-Krankenhauses in Berlin-Tiergarten

1.1.72 - 31.3.75	Assistenzarzt in der Anästhesie-Abteilung des Städtischen Krankenhauses Am Urban in Berlin-Kreuzberg
30.3.73	Geburt der Tochter Susanne
16.12.74	Geburt der Tochter Katrin
31.1.75	Anerkennung als Facharzt für Anästhesie durch die Ärztekammer Berlin
seit 1.4.75	Assistenzarzt in der Orthopädisch-Traumatologischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses Am Urban in Berlin-Kreuzberg

Frau Prof. Dr. med. Irene Boll danke ich herzlich für ihre
Hilfsbereitschaft und Unterstützung bei meiner Arbeit.

